



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

**FACULTAD DE MEDICINA
DIVISION DE ESTUDIOS DE POSTGRADO**

**CENTRO MEDICO NACIONAL
"20 DE NOVIEMBRE"
I.S.S.S.T.E
SERVICIO DE NEUROCIRUGIA**

TESIS

**PARA OBTENER EL TITULO DEL
POSGRADO EN NEUROCIRUGIA**

**TRASPLANTE DE CELULAS PROGENITORAS EN
ENFERMEDADES NEURODEGENERATIVAS
(ENFERMEDAD VASCULAR CEREBRAL)
No. DE REGISTRO: 161.2008**

**PRESENTA
DR. BERTIN MARTINEZ SILVA**

**ASESOR
DR. ANTONIO ZARATE MENDEZ**



MEXICO, D.F.

AGOSTO 2008



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Dr. Mauricio Di Silvio López
Subdirector de Enseñanza e Investigación

Dr. Antonio Zarate Méndez
Profesor Titular del Posgrado
En Neurocirugía
Para Médicos Especialistas
Curso de Alta Especialidad

Dr. Antonio Zarate Méndez
Asesor de Tesis

Dr. Manuel Hernández Salazar
Co-Asesor de Tesis

Dra. Silvia García
Co-Asesor de Tesis

Dr. Bertín Martínez Silva
Autor de Tesis

AGRADECIMIENTOS

A mis **Padres (Bertín y María Luisa)**, que gracias a su incansable esfuerzo, dedicación y sacrificio. SOY lo que SOY gracias a ustedes y no podre jamás pagarles lo que han hecho por mí y por mis hermanos. Quiero además decirles que gracias a sus enseñanzas y a su ejemplo, pondré siempre un doble esfuerzo en mi vida tanto en lo profesional como en lo familiar. Para jamás defraudarlos y siempre recordare lo que ustedes han hecho por mí y esto me servirá como aliciente para que nada ni nadie obstaculice mi desarrollo como profesionista y como padre de familia y todo gracias a ese gran ejemplo que ustedes me han dado.

Gracias padres míos los llevo en el corazón para toda la eternidad.

Todo esto es gracias a ustedes.

A mis **hermanos (Antonio y Carlos)**, gracias a ustedes mis amigos, mi sangre, mis compañeros de equipo, que desde niño siempre han estado ahí en las buenas y en las malas, en la victorias y en las derrotas, gracias a ustedes que han sido un ejemplo de superación y de admiración, recuerden siempre adelante, de los tropiezos siempre se aprende, a levantarse, y siempre en busca de algo mejor para uno mismo y para nuestros seres queridos. Los quiero mucho hermanos míos.

A mi **Hermana Hermosa (Laura)**, gracias a ti hermana linda que siempre has estado como un Ángel detrás de nosotros tus hermanos, al pendiente y al cuidado de nosotros, gracias por tu valentía y ejemplo de superación, sigue así como hasta ahora, cuida de tu familia y tu esposo.

A mi **Hermosísima Esposa (Imelda)**, gracias mi vida hermosa, después de tanto sacrificio y apoyo de tu parte, te agradezco el que estés conmigo, gracias por tu comprensión y sobre todo de tu **Amor**, gracias por pasar conmigo parte de mis cansancios, mis desvelos, mis ambiciones, mis enojos, mis esfuerzos, mis locuras. Gracias además por darme una hija hermosa, gracias por ser la madre de mis hijos, gracias por cuidar de ella ya que en mis días de ausencia tú has sido padre y madre al mismo tiempo, **gracias mi vida esto es gracias a ti y a mi hija. Y gracias a ti seguiré adelante para tener una familia ejemplar. ¡Te amo! nunca lo olvides.**

A mi **niña hermosa (María José)**, a ti **Luz de mi Vida**, como recuerdo el día que te vi nacer jamás lo borrare de mi mente, a ti traviesa incansable siempre estaré a tu lado para protegerte y darte lo mejor de mí. **Gracias mi niña hermosa por ser como eres. Gracias por permitirme ser tu Príncipe Protector. Esto es gracias a ti, tú me das fuerza para alcanzar mis objetivos y ponerme más metas.**

A mis **suegros y a mis cuñados**, gracias a ustedes que desde un principio me abrieron las puertas de su hogar, gracias por ofrecerme su cariño el cual es bien correspondido, gracias por todo el apoyo que han tenido para conmigo y para con mi esposa, ustedes son parte importante de este logro en mi vida, mil gracias de corazón.

Gracias a mis compañeros de residencia, recuerdo desde mi R1 a mis superiores Dr. Bramasco (30 segundos por favor), Dr. Luis Ramírez, Dr. Hugo Sánchez, Dr. López de Nava, al Dr. López Parra (la vida no es fácil), Dr. De Dios, Dr. Oscar Solís (Dr. Malís pero con gran aprecio lo recuerdo), Dr. Valdez (si mi señor), Dr. Rafael Maciel, Dr. Méndez Borjas (defendiendo a los dioses aztecas), Dr. Martínez Joel (el 20 es de los residentes), al Dr. Valderrama (corporación Valderrama), al Dr. Samuel Torres (nuestro pastor), Dr. Alejandro Sosa (funcionalologo y rocker), Dr. Lázaro Moreira (Dr. Chucha).

A mis compañeros de generación al Dr. Juárez Cosmes y al Dr. Salvador Guerrero. A pesar de los pros y contras serán siempre mis compañeros y no olvidare jamás nuestros días de cansancio y del quedarnos dormidos por todo el hospital. Así como de las llamadas de última hora para el acudir a ayudarnos por la mañana antes del pase de visita para terminar los pendientes.

Y a mis compañeros de menor jerarquía, Dr. Lucino Castillo (mi amigo de toda la vida), Dr. Méndez Farías (zamorano, oye te habla Bush), Dr. Apolinar (apolinator), Dr. Lujan (Dr. Luja), Dr. Kassab (Kasandra, y oye tengo que ir por tonito), Dr. Andrade (lagriman boy), Dr. Rojas (que se regrese al López), Dr. Hernández (Dr. es Denigrante) Dr. Santiago (Dr. RX) Dr. Gutiérrez (si no dice Zarate no me Quedo), Dr. Ruiz y Cuellar (Dr. Cruz Roja), Dr. Aburto (si mi señor), Dr. Manrique (Dígame Caballero).

Gracias a Ustedes he tenido miles de experiencias, cosas buenas y cosas malas pero esto me sirvió de gran aprendizaje para mi desarrollo como persona y como profesional de las Neurociencias, sin ustedes no hubiera solidificado mi formación como Neurocirujano. Esperemos encontrarnos en el futuro y saludarnos como buenos compañeros o en pocos casos como buenos amigos.

Gracias A Usted Dr. Antonio Zarate Méndez por haberme brindado la oportunidad de formar parte de esta Familia (Neurocirujanos).

Gracias por ser más que un profesor titular el ser un amigo, gracias por ser nuestro guía y maestro, y gracias sobre todo ser una persona muy humana.

Gracias Dr. Hernández Salazar por apoyarme en mi formación como neurocirujano y apoyarme en todos los proyectos que hemos emprendido.

Gracias Dr. Gil Ortiz siempre apoyando a todas las generaciones, tanto en lo quirúrgico y como persona, gracias por los miles de tips que me ha compartido y sobre todo el enseñarme ser mejor cirujano y persona.

Gracias Dr. Terrazo, Dr. Rodríguez Ramos, Dr. Rodríguez Díaz, Dra. Morel Trejo, Dr. Ramírez Castañeda.

Por todas sus enseñanzas y todos los tips quirúrgicos me han enseñado. Y la paciencia para tener la disposición de enseñar por eso maestros míos gracias mil gracias.

Y una especial gratitud a nuestro líder moral **Don Armando**, por siempre estar pendiente de los residentes, siempre proporcionarnos una estadía placentera en esta casa nuestra El Hospital.

Gracias **Dra. Silvia García** por siempre estar apoyándonos en nuestro desarrollo profesional y hacernos encontrarle el gusto a la investigación y a la publicación de artículos. Así como cobijarnos con su manto protector para el tratar de prepararnos y ser excelentes médicos de las neurociencias.

Pero sobre todo al principal libro de Medicina Que existe a ustedes nuestros Pacientes que sin ustedes no existiríamos y sobre todo el haberme permitido estudiarlos, tratarlos y operarlos. El haberme permitido entrar a sus sentimientos y dolencias permitiéndome a mí el ayudarlos para tratar de aliviar ese dolor.

Y Sobre Todo gracias a Dios por haberme permitido vivir y llegar hasta aquí.

Siempre estaré eternamente agradecido contigo y estaré a tus órdenes para toda la vida.

Gracias Dios Mío.

INDICE

| | |
|-----------------------------|----|
| Agradecimientos..... | 4 |
| Resumen..... | 7 |
| Abstract..... | 8 |
| Problema..... | 9 |
| Antecedentes..... | 10 |
| Objetivos..... | 19 |
| Hipótesis..... | 20 |
| Justificación..... | 21 |
| Material y Metodología..... | 22 |
| Resultados..... | 24 |
| Discusión..... | 27 |
| Conclusiones..... | 28 |
| Anexos..... | 29 |
| Bibliografía..... | 33 |

RESUMEN

Antecedentes.- El trasplante de células progenitoras hematopoyéticas en diversas enfermedades neurodegenerativas ha sido evaluado y con buenos resultados en modelos experimentales en varias enfermedades neurológicas. **Objetivo.-** evaluar la seguridad y eficacia del trasplante de células tallo en pacientes con Enfermedad Vascul ar isquémica aguda. **Material y Métodos.-** fue un estudio prospectivo, longitudinal, aleatorizado, abierto, experimental y comparativo realizado en el Servicio de Neurocirugía del Centro Médico Nacional “20 de noviembre” ISSSTE de octubre 2006 a julio del 2008. Se incluyeron pacientes con diagnóstico de EVC isquémico déficit focal motor. Se dividieron en dos grupos uno con el tratamiento convencional y el segundo se les injertaron células madre propias que se obtuvieron por citaféresis después de la estimulación medular con filgastrim por cinco días. Se evaluaron a través de instrumentos validados. **Conclusiones.-** este es un reporte preliminar, se evaluaron 12 pacientes, seis en cada grupo. No encontramos diferencia significativa entre los grupos estudiados, pero se observa tendencia a una recuperación más rápida en el grupo trasplantado. El procedimiento quirúrgico fue seguro. Es necesario aumentar la muestra para poder tener los resultados definitivos. **Palabras clave.-** EVC isquémico agudo, injerto de células tallo

ABSTRACT

Background.- Hematopoietic stem cells transplantation on neurodegenerative diseases has been evaluated on experimental studies so are carried out several clinical assays on this field with favorable underwent in several Neurological diseases. **Objective.** - it was to evaluate efficacy and security of stem cell transplantation in patients with acute focal brain ischemic **Material and Methods.-** It was a open, prospective, randomized longitudinal, experimental and comparative study. It was realized in the Neurosurgical department at Centro Medico Nacional "20 de Noviembre" ISSSTE, from October 2006 to July 2008. There were including patients with Stroke ischemic diagnosis and motor deficit. They were divided in two groups, one group was treatment with conventional management and second group received stem cell transplantation, and witch cells were obtained by aphaeresis after filgastrim medulla stimulation for five days. Patients were evaluated by validate instrument. **Conclusions.** - This is a preliminary report. It was include 12 patients, six in each group. It was not significant difference between groups so we observed tended to shorten recuperation in the group transplantation than control group. Surgical proceeding was security. It is necessary increase our sample to get definitive conclusions. **Key words.** - Ischemic acute stroke, stem cell transplantation.

PROBLEMA

Ante tal panorama y en sustento a lo analizado nuestro equipo se planteo el siguiente cuestionamiento ¿El trasplante de células progenitoras podrá mejorar la funcionalidad neurológica en los individuos que, de nuestra población, hayan sufrido EVC isquémico?

ANTECEDENTES

El pensamiento tradicional plantea que el cerebro adulto es incapaz de regenerarse y de auto repararse tal como la piel o el hígado. Ya que en estos órganos, las células muertas son reemplazadas por células idénticas después de la proliferación y diferenciación de células cercanas (o células madre residentes).

A partir de estas observaciones se ha podido considerar que el trasplante celular más que la inducción de células y precursores de las células blanco parece ser una opción viable para la terapia de EVC isquémico. Esto ha despertado un gran interés en desarrollar nuevas terapias basadas en la transferencia de genes y reparación celular siendo actualmente la siguiente generación en terapias para tratamiento de EVC isquémico.

Por lo que se ha propuesto que la terapia celular y genética puede proveer un puente entre los esfuerzos existentes para la neuroprotección en la fase aguda o de penumbra, y a largo plazo la remodelación de la zona de isquemia o infarto con una nueva y funcional arquitectura celular.

Modelos experimentales en infarto cerebral (stroke)

Zhao LR et al. En modelos de ratas con isquemia inducida obteniendo células de medula ósea humana y aplicándolas una semana después de la oclusión de la ACM (arteria cerebral media) en tres sitios de la corteza alrededor de la zona de infarto. Dos semanas después de la implantación, las células de la medula ósea expresaron marcadores gliales, neuronales y oligodendrogiales, mejorando el resultado funcional probablemente secundario al factor trófico de las células de medula ósea.

Li Y, et al. Realizo un experimento en modelos de ratas, obteniendo células de medula ósea de humano y aplicándolas un día después de la oclusión de ACM vía intravenosa demostraron: un incremento en la secreción de factor de crecimiento en el sitio de infarto con mejoría en el resultado funcional.

Chen J, et al. en modelos de ratas adulto tomaron células de medula ósea, liberándolas un día después de la oclusión vía endovenosa demostrando una mejoría en el resultado funcional.

Li Y, et al. en modelos de rata adulta tomaron células de medula ósea liberándolas un día después de la oclusión vía intrarterial en arteria carótida interna mejorando el resultado de severidad neurológica.

Snyder EY, et al. Desarrollaron un precursor neuronal murine llamado c17.2 derivado de la pared germinal externa del cerebelo neonatal murino, éste fue inyectado a los ventrículos de un ratón recién nacido describiendo migración de las zonas transplantadas a la zona isquémica.

Brevig T, et al. Sugirieron que las células nerviosas de porcino para xenotransplante como una fuente potencial de células para tratamiento de isquemia cerebral.

Se ha reportado también que han sido aisladas células madre neurales de embriones humanos. Estas células embrionicas humanas fueron expandidas in vitro en neuroesferas y después transplantadas dentro de los ventrículos en ratas, un mes después, estas células migraron ipsilateral y contralateral en la corteza e hipocampo y por medio de inmunohistoquímica se reveló diferenciación astrocítica y neuronal. ,

Se ha utilizado células de hipocampo de fetos humanos y se han implantado observado que estas han sobrevivido en modelos de roedores con isquemia. Otros autores han valorado los efectos funcionales y cognitivos en modelos similares de isquemia cerebral. ,

Las células madres de cordón umbilical de humano, han sido exitosamente diferenciadas in vitro hacia células gliales y neuronas posteriores a la aplicación de ácido retinoico. Aplicándolas vía intravenosa, en ratas de 1 a 7 días después de la isquemia cerebral, demostrándose migración y diferenciación hacia células gliales y neuronales, y observándose, mejoría funcional en ratas.

Otro de los estudios pioneros usando una línea celular exógena para regeneración en áreas del sistema nervioso central lesionado por EVC isquémico fue hecho por Kleppner en 1995. Las células utilizadas eran derivadas de teratocarcinoma y diferenciadas en células humanas neuronales post-mitóticas, que fueron utilizadas en modelos de ratas con oclusión de ACM, con inyecciones de estas células dentro del área de isquemia resulto en una restauración parcial del comportamiento y la función motora.xx Estudios de seguimiento en estos animales a los 14 meses no mostraban toxicidad ni transformación tumoral.

Asahara T. et al. mostraron evidencias de que de que células progenitoras endoteliales circulantes contenidas en la población celular CD34+ ricas en la sangre de cordón umbilical tienen la capacidad de participar en la neovascularización de tejidos isquémicos.

Células humanas CD34+ aisladas de sangre de cordón umbilical y células CD34- también de sangre de cordón, fueron administradas vía intravenosa 48 horas después del evento isquémico.

El efecto de las CD34+ fue evidente dentro de las 24 horas posteriores al transplante, donde se marco la vasculatura por infusión de tinta de carbono demostrando neovascularización en el borde de ACM y ACA en la corteza.

Los resultados sugieren que la función cortical y la angiogénesis, potencialmente soportan la integridad de la corteza irrigada por ACM, esto puede ser mantenido por animales tratados con CD34+ después de la isquemia.

Y la activación de la neurogénesis endógena fue observada después del evento isquémico y donde se acentuó en ratas que recibieron CD34+. Y la migración de células neuronales progenitoras hacia la zona isquémica fue vista desde el día 14.

Demostrándose que la administración de CD34+ a ratones inmunocomprometidos dentro de la 48 horas del evento isquémico promueven la neovascularización en el borde de la zona isquémica seguido por neurogénesis endógena. ,

Jaquet, K, et al. uso EPO (Erythropoietin) como agente proangiogénico, donde se acelero la formación de neovasculatura y fue acompañado como promotor de la neurogénesis después de un evento isquémico.

Hoehn M. et al. desarrollo un método de monitoreo de la proliferación y migración de las células madre neurales con el uso de imagen de resonancia magnética.

En los estudios experimentales con isquemia cerebral provocado dos semanas antes del trasplante de células madre embrionarias en donde expresaban una proteína verde fluorescente, fueron inyectadas de manera contralateral al sitio de isquemia y después se realizaron IRM seriadas.

Demostrando que las células migraron a lo largo de cuerpo calloso y sobre las paredes ventriculares depositándose en el límite de la zona isquémica, confirmado el hecho de que las células madre pueden tener migración dinámica en el área de infarto.

Otras fuentes utilizadas para la obtención de Células Madre para modelos experimentales en Stroke.

Células Progenitoras Neuronales (NPC)

Se han observado células neuronales progenitoras en el cerebro adulto de mamíferos, que pueden proliferar, renovarse, y generar todos los elementos celulares del cerebro maduro. Incluyendo neuronas.

En un estudio realizado en ratas donde se ocluyo por 45 minutos la ACM y 24 horas después las células indiferenciadas de la corteza de embriones de ratas (14-15 días) fueron transplantadas estereotácticamente en la corteza tanto sana como la corteza isquémica en la región subventricular.

Las células del donador se diferenciaron, proliferaron y migraron entre los tractos de sustancia blanca, y por medio de marcadores de inmunohistoquímica se demostró la presencia de células diferenciadas e indiferenciadas donde a los 7 días de implantadas ya se observo actividad, además las células donadas entre los días 21 y 45 mostraron fenotipo neuronal, incluso con producción de neurotransmisores, se observo que había mas diferenciación si estas se transplantaban en la zona subventricular, que en la corteza cerebral.

Línea Celular Nt-2 Inmortalizadas

Guillemain I. et al. Desarrollo líneas celulares transformadas en neuronas in Vitro por ejemplo las NTerra -2 línea celular derivada de tumor germinal testicular la cuales se expusieron a ácido retinoico para diferenciarse a línea neuronal.

Células Estromales de Medula Ósea

Otra fuente potencial de obtención de células madre, las cuales pueden dar la variedad de obtener células como hueso, cartílago, adipositos, músculo, hepatocitos, y neuronas. Cuándo se exponen a factores de crecimiento selectivos

in Vitro, y diferenciarse en células con marcadores de NPC (neuronal progenitor cells).

Li et al. Demostró la diferenciación de células derivadas de medula ósea (BMSC) transplantadas en ratas después de la oclusión de ACM 4 días después de la isquemia, las cuales sobrevivieron, migraron, y se diferenciaron en células que mostraron marcadores neuronales y gliales. Ambas técnicas de administración intravenosa o intracarotidea de células (BMSC) mostraron una mejoría de recuperación conductual.

Células de Cordón Umbilical

Savitz S. et al. Demostró que la infusión intravenosa de células de cordón umbilical en ratas 24 horas posterior a la oclusión de ACM demostró mejoría en la conducta a los 14 días posterior de su implantación comparados con los controles.

Células Progenitoras Endoteliales (EPCs)

Taguchi A. et al. e n recientes estudios se ha identificado a las células progenitores endoteliales (EPCs endothelial progenitor cells) que parecen contribuir a la hemostasia vascular y a la reparación.

Taguchi A. et al. realizó ensayos clínicos en donde se valoró el potencial uso terapéutico de las células mononucleares derivadas de medula ósea como una fuente rica de células inmaduras incluyendo las células (EPCs). En isquemia cardiaca ya se ha iniciado y se han visto resultados alentadores. Además, estas células inmaduras, incluyendo las CD34+, se ha visto que contribuyen al mantenimiento de la vasculatura, no solo como fuente de EPCs, sino también como fuente de factores de crecimiento y factores de angiogénesis. Incluso muestran participación en la neovascularización en los modelos experimentales de isquemia cerebral. Encontrándose que la población de células circulantes especialmente CD34+ y CD133+ están asociadas en el mantenimiento y reparación de la vasculatura cerebral.

Estos resultados indican que el nivel de CD34+ sirve como índice/marcador de la función cerebrovascular.

Células Embrionarias

Kelly S. et al. realizó un estudio donde se transplantaron células derivadas de tejido fetal del SNC directamente en la corteza después de un evento isquémico, se examinó la habilidad de estas células h-SNC para sobrevivir, migrar, y diferenciarse después de 7 días posterior a isquemia focal cortical. La ratas recibieron tres implantes de células de h-SNC entre el eje antero- posterior ipsilateral a la lesión en la corteza 7 días después de oclusión de ACM (Arteria Cerebral Media), 4 semanas después fueron identificadas las células transplantadas por medio de anticuerpos (SC121), y se observó que muchas de las células transplantadas sobrevivieron en mayor cantidad en el área medial al sitio de la lesión en comparación con las células transplantadas en el sitio lateral o adyacente de la lesión. En promedio (100,147+/- 28,944) de las 300,000. Así las células transplantadas cerca del sitio de lesión isquémica son mas capaces de sobrevivir comparadas con la que se implantan lateral o adyacentes a la lesión isquémica. Por medio de inmunohistoquímica con SC121 se observó migración de las células hacia el sitio de la lesión (mas de 1.2 mm.) a través de la corteza en lugar de migrar hacia la línea media. Con lo que se demostró que las células humanas de SNC fetales sobreviven

en el cerebro isquémico de las ratas y suelen migrar hacia el sitio de lesión las cuales tenían fenotipo neuronal. Concluyéndose que el microambiente cerebral influye en la supervivencia, migración, y diferenciación de las células h-SNC.

Células Madre Estromales en Adipositos

Recientes estudios demuestran que los adipositos contienen células madre estromales. En cultivos de células estromales, éstas exhibieron marcadores celulares de superficie consistentes con células madre mesenquimatosas, expresando nestina, esto sugiere que existe un potencial de diferenciación en especies de linaje neuronal. Pero no expresaron marcadores para células madre hematopoyéticas o macrófagos. En estudios experimentales la inyección de células madre estromales de tejido adiposo humano en el ventrículo lateral de ratas sanas, evidenciaron migración a múltiples áreas del cerebro incluyendo corteza contralateral. más importante fue que estas células persistieron en su destino a los 30 días del implante.

En otro modelo experimental la inyección de las células estromales adiposas en el ventrículo lateral un día después de la oclusión de ACM resultó en migración en el área isquémica donde las células implantadas fueron visualizadas en el borde intacto de la lesión del cerebro, estas células también viajaron a la corteza contralateral. A los 7 días después de la isquemia cerebral las ratas transplantadas tuvieron significativa mejoría en la recuperación conductual motora y somatosensorial comparado con animales que solo recibieron solución salina. Los efectos de estas células en el cerebro son desconocidas, pero debido al efecto benéfico posterior al trasplante sugiere fuertemente que las células implantadas se integran en las estructuras del huésped apoyando la hipótesis de que los factores tróficos (neurotróficos) juegan un papel importante en dicha integración.

Neurogenesis como un Proceso Activo

Weissman et al. propusieron que la Neurogenesis es un proceso que se creía concluía en el embrión tanto en roedores como en humanos. Sin embargo, durante la última década, numerosos estudios han sugerido que la neurogénesis se extiende en la vida adulta tanto en animales y humanos, por lo menos en algunas áreas privilegiadas del cerebro.

La mayoría de los estudios se han enfocado en células progenitoras neuronales (neural stem cells), localizadas en la zona subventricular de los ventrículos laterales y en el giro dentado del hipocampo en roedores, y en los monos estas regiones están localizadas en hipocampo y neocorteza.

Eriksson et al. observaron que las nuevas neuronas son generadas continuamente en el giro dentado durante toda la vida. Uchida et al. aislaron células madre de CNS de tejido fetal humano y transplantadas en cerebros de ratón, donde después proliferaron y se diferenciaron en células neuronales,

Células Utilizadas en modelos experimentales para Infarto Cerebral.

| Autor | Celulas Utilizadas | Via Administrada | Tiempo del Implante |
|-----------------------------|-------------------------------------|-------------------------|----------------------------|
| Zhao LR et al. | células de medula ósea humana | Intracerebral | una semana después |
| Li Y, et al. | células de medula ósea humana | Intravenosa | una semana después |
| Chen J, et al | células de medula ósea humana | Intravenosa | Un día después |
| Li Y, et al. | células de medula ósea humana | Carótida Interna | Un día después |
| Asahara,T. et al. | CD34+ de cordón umbilical | Intravenosa | 48 horas después |
| Vendrame M, et al. | Células de cordón umbilical | Intravenosa | 24 horas después |
| Chen J, et al. | Células de cordón umbilical | Intravenosa | 1 semana después |
| Savitz S, et al. | Células de cordón umbilical | Intravenosa | 24 horas después |
| Shyu WC, et al. | Células de sangre periférica (Cd34) | Intracerebral | 1 semana después |
| Willing AE, et al. | Células de sangre periférica | Intravenosa | 24 horas después |
| Kang SK, et al. | Células estromales de adipositos | Intracerebral, IV* | 24 horas después |
| Ishibashi S, et al. | Células Neurales Humanas | Intracerebral | 4 días después |
| Kelly S, et al. | Células Neurales Humanas | Intracerebral | 1 semana después |
| Chu K, et al. | Células Neurales Humanas | Intracerebral IV* | 24 horas después |
| Borlongan CV, et al. | Células Neurales Humanas | Intracerebral | 1 mes después |
| Bliss TM, et al. | Células Neurales Humanas | Intracerebral | 1 semana después |
| Saporta S, et al. | Células Neurales Humanas | Intracerebral | 1 mes después |
| Borlongan CV, et al. | Células Neurales Humanas | Intracerebral | 1 mes después |

Estudios en Humanos.

Kondziolka D. et al. realizaron uno de los primeros estudios con células progenitoras aplicadas en humanos, utilizaron LBS-neurons (layton bioscience, inc., Sunnyvale, Ca) las cuales son producidas de la línea celular NT2/D1 de precursor humano e inducidas para diferenciarse en neuronas por medio de la adición de 1- μ M de ácido retinoico. Basándose en el peso cerebral de la cantidad de células usadas en ratas, la dosis utilizada es un veintésimo de la dosis que fue efectiva en éstas. Se trató de un estudio ciego, ensayo clínico fase I, donde se reclutaron 12 pacientes con infarto en los ganglios basales crónicos (6 meses-4.5 años) que recibieron implantes estereotácticos de células neurales humanas. Inicialmente 4 pacientes recibieron una sola inyección de 2 millones de células divididas en 3 de 20 μ l por implante, se implantaron en el área del infarto, los siguientes 8 pacientes fueron aleatorizados para recibir un implante de 2 o 6 millones en el área de infarto. Para evaluar discapacidad se usaron los siguientes instrumentos: NIHSS y la European Stroke Scale, Índice de Barthel a su ingreso y a los 6 meses. Para la evaluación de calidad de vida se utilizaron: SF-36 Health Survey previo al implante y a los 6 meses, las evaluaciones neurológicas incluyeron las escalas NIHSS y ESS fueron hechas al inicio y en las visitas de seguimiento por las primeras 24 semanas. Las evaluaciones de discapacidad y calidad de vida fueron realizadas al inicio y a la semana 24 del para completar el índice de Barthel y las escalas SF-36. Se realizó Tomografía por Emisión de Positrones (PET) al inicio y a la semana 24 y 52. IRM al inicio, y a la semana 4 y 24. Encontraron: la media del ESS fue de 60.1 para el grupo de 2 millones y de 61.3 en el grupo de 6 millones, en la semana 24 de seguimiento; 6 de 12 pacientes tuvieron mejoría en la escala de 3 a 10 puntos en la ESS, 3 pacientes sin cambios y 3 pacientes con empeoramiento de su escala inicial. La comparación en la escala ESS inicial y la de semana 24 tuvo diferencia significativa $p=.046$ y una diferencia significativa de $p = .026$ entre los grupos de 2 millones y 6 millones de células. Los resultados con la escala de NIHSS fue similar: 1 paciente sin cambios, 3 pacientes con empeoramiento y 8 pacientes mejoraron. Los estudios de IRM no mostraron diferencias entre los hallazgos antes o después del implante. Un paciente falleció por casua jasnas al EVC en él cual la autopsia reveló la persistencia de las células transplantadas a 27 meses del procedimiento. ,

En la Fase II del ensayo clínico, se reclutaron 18 pacientes con déficit neurológico por infarto en ganglios basales (de 1 a 6 años), donde se aleatorizaron para el trasplante estereotáctico de 5 millones o 10 millones de células (14 pacientes) y 4 pacientes en el grupo control. 6 de los pacientes mostraron mejoría en la escala European Stroke Scale (ESS), pero sin significancia estadística comparada con el grupo control, aunque este estudio no demostró poder estadístico para demostrar su eficacia, es de gran utilidad como referencia para el desarrollo de nuevos ensayos clínicos subsecuentes.

Savitz Sl. et al. en un ensayo clínico en el que realizaron xenotrasplante a 5 pacientes con infarto de ganglios basales crónico (1.5 años – 10 años), por medio de estereotaxia utilizando células progenitoras Neurales de Porcino Fetales (50 u 80 millones), con un seguimiento de 4 años, donde se apreció mejoría en 2 de los 5 pacientes en la escala de NIHSS (Escala de Infarto Cerebral del Instituto Nacional de Salud). En este estudio no se utilizó inmunosupresión ya que con la finalidad de evitar un rechazo del xenotrasplante las células fetales derivadas de porcino la

cuales se pre-trataron utilizando anticuerpos anti-complejo mayor de histocompatibilidad clase I se observó que actúa previniendo el rechazo tan efectivo como la ciclosporina.

Estudios en Humanos.

| Autor | Celulas Utilizadas | Via Administrada | Tiempo del Implante |
|------------------------------|-------------------------------------|------------------|---------------------|
| Kondziolka D. et al. Fase I | Células Neurales Humanas (NT2) | Intracerebral | 6 meses - 4.5 años |
| Kondziolka D. Et al. Fase II | Células Neurales Humanas (NT2) | Intracerebral | 1 a 6 años |
| Savitz SI, et al. | Células Neurales de Porcino Fetales | Intracerebral | 1.5 años–10 años |

Con sustento a los estudios realizados por diferentes grupos Tonya Bliss, Gary K. Steinberg, et al. proponen posibles mecanismos de la terapia celular en infarto cerebral los cuales son:

Integración Celular hacia los circuitos del Huésped

Se ha observado la expresión de proteínas sinápticas en las células trasplantadas, en en ratas con isquemia cerebral donde se utilizaron NPCs (Neural Progenitors Cells) y donde se utilizaron neuronas hNT en trauma cerebral se ha observado el potencial de estas células para formar contactos sinápticos. , ,

Reducción de muerte Celular del Huésped

El trasplante celular en las etapas tempranas de la isquemia cerebral eventualmente reduce el tamaño de la lesión ya que inhibe la apoptosis neuronal en la zona de penumbra, produciendo en efecto neuroprotector. Es la regla la profusa producción de factores tróficos es estas zonas, (factor de crecimiento endotelial, factor de crecimiento fibroblástico, factor neurotrófico derivado de células gliales, factor neurotrófico derivado cerebral. , , ,

Inducción de Plasticidad Cerebral

Se sabe que la recuperación de un paciente posterior a un infarto cerebral es debido en buena parte a un incremento en la plasticidad cerebral endógena, incluyendo incremento en las conexiones aferentes y eferentes entre el sitio dañado y el tejido adyacente, incluso en las regiones contralaterales por medio de la sinaptogénesis. , , , El trasplante celular puede coadyuvar con este mecanismo reparador endógeno esto se ve apoyado al encontrar consistentemente un incremento en la expresión de sinaptofisina en la zona de penumbra después de la aplicación intravenosa de células estromales de médula ósea.

Incremento en la Neovascularización

El incremento de la vascularidad en la zona de penumbra especialmente cuando ocurre pocos días después del infarto cerebral está estrechamente asociado a la recuperación neurológica. , , , Hay estudios donde se ha corroborado que el trasplante estromales induce la formación de vasos sanguíneos. , , , Esto sucede a

consecuencia de una promoción de la angiogénesis por el incremento de el factor angiogénico, denominado factor de crecimiento endotelial vascular. , , , y otros como como el factor neurotrófico cerebral, factor 1 estromal y factor de crecimiento fibroblástico, los cuales están relacionados con la proliferación de células endoteliales y movilización de células progenitoras endógenas endoteliales.

Atenuación de la Inflamación

Un mecanismo de reparación atribuido a células trasplantadas es la atenuación de la respuesta inflamatoria/inmunológica con lo que se reduce la infiltración de leucocitos dentro del cerebro. Aunque no está claro, sí esto ocurra como un efecto directo sobre la respuesta inflamatoria o como un efecto secundario atribuible a la “disminución” de volumen de la zona necrótica, por otro lado existe el precedente que el trasplante de células madre puede inhibir la activación de las células T. ,

Reclutamiento de Progenitores Endógenos

Se ha observado que la neurogénesis está incrementada después de un infarto cerebral (stroke). , como un mecanismo de reparación cerebral, éste puede teóricamente ser potencializado por medio del trasplante celular, hay evidencia de esto en estudios con trasplante de células de cordón umbilical y de células progenitoras de médula ósea. , también se ha demostrado que las células trasplantadas pueden tener un efecto sobre el reclutamiento de células progenitoras de otros sitios (tejidos), movilizándose de esta manera progenitores endoteliales hacia la circulación para reforzar la vascularización, con ello elevar la movilización celular mesenquimatosa después de un infarto cerebral.

OBJETIVOS

General:

Conocer la eficacia y seguridad del trasplante de células madre como terapia alternativa funcional en los pacientes con diagnóstico de EVC isquémico con déficit focal motor evaluando por medio de las escalas de funcionalidad tanto al inicio del estudio y durante nuestro seguimiento que será por 12 meses. Intentando mejorar la calidad de vida productiva para reintegrarse a la sociedad.

Específicos:

1. Determinar la calidad de vida de estos pacientes antes y después del trasplante de células madre
2. Determinar si existen factores que influyan en el resultado final de la mejoría o no de los pacientes post trasplantados
3. Conocer si la cantidad de células trasplantadas es suficiente o no para la mejoría clínica funcional.
4. Conocer la morbi-mortalidad asociada al procedimiento quirúrgico
5. Conocer por medio de las escalas de funcionalidad si existe diferencia significativa entre los grupos a tratar

HIPÓTESIS

Hi: El trasplante de células madre mejora la funcionalidad neurológica motora, en pacientes que han sufrido EVC isquémico.

Ho: No hay diferencia en pacientes con trasplante de células madre contra los pacientes con manejo médico convencional y rehabilitación.

JUSTIFICACIÓN

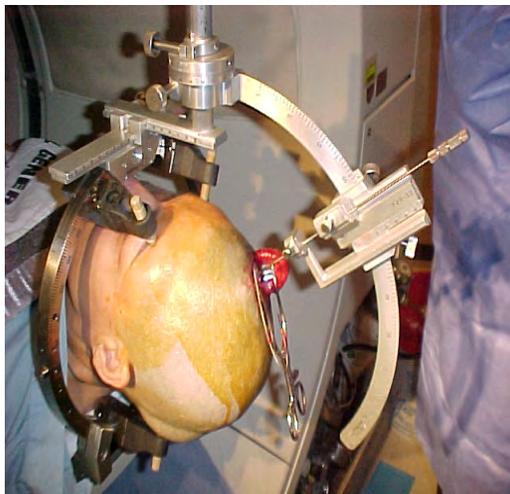
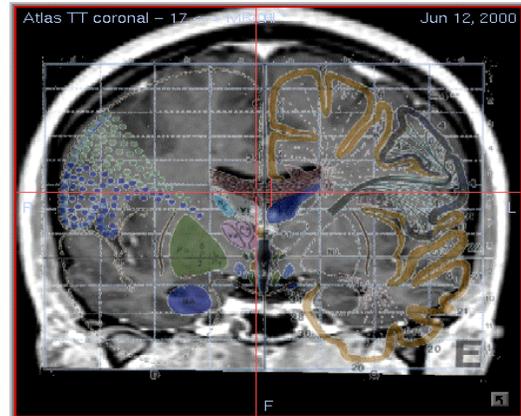
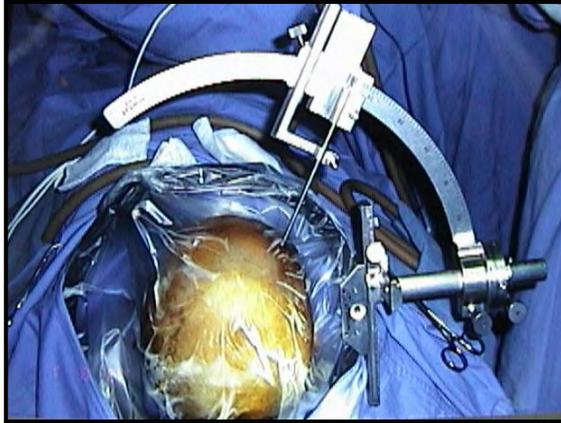
La enfermedad cerebro vascular ocupó la 6ta causa de muerte en pacientes de edad productiva de los 15 a los 64 años, por debajo de Diabetes Mellitus, Cirrosis Hepática, Enfermedades Isquémicas de Corazón, Accidentes de tráfico, y Homicidios. Con una tasa de 9.4/100,000 habitantes y siendo el 3.6 % del total de las muertes. Y un número de 6,348 defunciones en 2004.

Y es la tercera causa de muerte en general. Por debajo de Diabetes Mellitus y Enfermedades Isquémicas de corazón. Con una tasa de 25.6 / 100,000 habitantes y siendo el 5.7 % del total de las muertes. Y un número de 26,975 defunciones en 2004⁽⁶³⁾. Así como el alto costo de manutención y de rehabilitación que requieren este tipo de pacientes con déficit neurológico focal y que en la mayoría de los casos no es posible su reintegración a la sociedad. Ya que este tipo de pacientes presentan pocas alternativas de tratamiento en el curso de su enfermedad. Y a la mortalidad elevada asociada a las complicaciones que este tipo de pacientes presentan.

MATERIAL Y METODOLOGIA

De diseñó un estudio prospectivo, longitudinal, aleatorizado, abierto, experimental, y comparativo. El cual se realizó en el Servicio de Neurocirugía del Centro Médico Nacional "20 de noviembre" ISSSTE. El cual se inicio en octubre 2006 y este reporte es a julio del 2008. Se incluyeron pacientes con diagnostico de EVC isquémico con déficit focal motor, entre 18 – 80 años de edad, con evento isquémico único, déficit motor focal, evento isquémico dentro de los primeros 10 – 15 días, sin enfermedades hematológicas ni oncológicas, los pacientes y/o sus familiares responsables firmaron una carta de consentimiento escrito informado donde se contemplo la necesidad de ser videograbados. Fueron excluidos aquellos con antecedente de eventos isquémicos, enfermedades autoinmunes, EVC isquémico con transformación hemorrágica, contraindicación médica para procedimiento quirúrgico, enfermedad comorbida grave e individuos portadores de marcapasos cardiaco o dispositivos metálicos permanentes (prótesis, válvulas, etc.). Se eliminaron quienes abandonaron el seguimiento y aquellos que no completaron al menos 70% de las evaluaciones. La asignación de si recibirían implante celular o no fue por números aleatorios. Todos los pacientes fueron hospitalizados en el servicio de Neurocirugía. Los enfermos que se asignaron al grupo control se manejaron de forma conservadora que incluyó control de factores de riesgo, movilización fuera de cama y rehabilitación temprana en todos se uso heparina de bajo peso molecular profiláctica. Los paciente del grupo tratados con implante además fueron evaluados por el servicio de Hepatología y se les realizó un perfil hematológico completo, se realizó estimulación de la medula ósea con G-SCF (filgrastim, Neupogen) 5 mcg/kg/dia, por 5 días vía subcutánea y posteriormente se obtuvieron células madre de sangre periférica en la Unidad de aféresis donde se sigue el siguiente proceso: elaboración de historia clínica en la unidad de aféresis, toma de muestras y valoración de venas, si no existe acceso venoso adecuado instalación de catéter tipo Mahurkarun ves reteniendo el acceso venosos se inicia la recolección de células tallo. Se tomó biometría hemática antes y después de cada procedimiento. Al concluir el procedimiento se tomó muestra para biometría hemática, cuenta de CD34+, cuenta de CD 133, en cada cosecha. La cosecha se hicieron movilizando 2 y media veces el volumen plasmático del donador (paciente) el día del trasplante hasta alcanzar los 10×10^6 de CD34+, y 5×10^6 de CD 133. Procedimiento quirúrgico: se realiza una planeación estereotactica, guiada por imágenes de la Resonancia Magnética (RM). A traves de fusión de imágenes se hace la verificación de la planeación inicial con una interposición milímetro a milímetro de la zona isquemica a transplantar y el atlas de Schatelbraum-Baley y Tailarach incluidos en el software de planeación estereotáctica de Leibinger Fischer STP 3. Una vez Identificado el blanco quirúrgico, el paciente pasa a la sala quirúrgica en donde siempre permanece despierto para la realización del procedimiento, este consiste en la infiltración de xilocaína dérmico y subgaleal, la realización de un trepano ubicado habitualmente a 11 cm. del nasión y 2.5 cm. por fuera de la línea media, de acuerdo al lado isquémico elegido para cirugía. Una vez hecho esto, se realiza una coagulación mediante pinza bipolar de la dura madre la cual es abierta mediante bisturí del numero 22, se realiza corticotomía de 0.5mm, simultáneamente se prepara con las coordenadas el sistema ZD de marcación estereotáctica y se calibra la distancia eligiéndose la punta como blanco en el phantom o anillo gemelo una vez que se identifica el área se inyectan las células obtenidas mediante aféresis (CD34, CD133) en 10 μ dependiendo de la extensión. Una vez que no hay evidencia de incidentes operatorios se procede a verificara hemostasia y cierre de galia con sutura absorbible y piel con sutura no absorbible. El paciente pasa su cama y es dado de lata 48 h. después. El seguimiento se realiza en Consulta externa a los 2, 4, 6, y 12

meses. Las evaluaciones clínicas se realizaron con los siguientes instrumentos: NIHSS, CNS, EAM, MRC, IB, MIF, en los casos requeridos los pacientes fueron filmados. Todos los pacientes recibieron ASA y clopidogrel.



La evaluación estadística comprendió el análisis matemáticos en términos de cambio entre el inicio y a los 6 meses entre ellos mismos y entre ambos grupos. Con una prueba pareada entre el grupo de tratamiento y el grupo control. Así también una T student para evaluar los valores de los dos grupos tanto al inicio y a los 6 meses. A los datos valores obtenidos se les realizo la media y desviación estándar en todas las variables de estudio con la prueba de Kolmogorov-Smirnov. Una vez comprobada la distribución normal se procedió al análisis de dichas variables con el análisis de prueba pareada de muestras relacionadas y prueba T student para grupos independientes. Las pruebas estadísticas fueron de dos colas y conducidas al 0.05 nivel de significancia. Con respecto a las variables continuas, los datos fueron resumidos usando estadísticas descriptivas.

RESULTADOS

Características de los pacientes.

Hasta el momento se han incluido 12 pacientes, seis para cada grupo; 6 fueron mujeres y 6 hombres. La edad de los pacientes varió de 39 a 77 años con una media de 61.58 años; el periodo entre el inicio del EVC y el ingreso al proyecto de los pacientes fue de 4 a 15 días, media de 8.08 días. En el grupo de pacientes trasplantados el tiempo que transcurrió entre el inicio de EVC y el injerto celular fue de 10 a 20 días con media de 14.5.

De los 12 pacientes incluidos 4 de ellos padecen de Diabetes Mellitus, 7 Hipertensión arterial. 3 tuvieron historia de tabaquismo y 1 con enfermedad carotídea.

Seguridad

Una paciente presentó un hematoma subdural 10 días después del injerto celular en el sitio donde se había hecho el trepano el cual se drenó sin complicaciones. 2 pacientes presentaron cefalea leve que cedió con la administración de analgésicos.

Resultados Funcionales

De las 6 escalas de funcionalidad CNS, NIHSS, EAM, MRC, IB, MIF. Se realizaron análisis estadístico del inicio del estudio a los 6 meses de seguimiento de ambos grupos, por medio de T pareada en cada grupo y después T de student entre ambos grupos.

En el grupo trasplantado:

En la escala CNS (Canadian Neurological Stroke, donde la puntuación más alta refleja mejor estado neurológico) se obtuvieron los siguientes resultados: la media previo al trasplante 6.7 ± 1.8 a los 6 meses 7 ± 2 ($p=0.597$)

En la escala NIHSS (National Institute of Health Stroke Score, donde un bajo puntaje refleja un mejor estado neurológico) la evolución Basal se obtuvo una media de 14 ± 5 y a los 6 meses 11 ± 4 , ($p=0.169$).

En la escala EAM Ashworth Modified Scale, valora espasticidad, el puntaje bajo refleja mejor estado clínico, la evaluación se obtuvo una media de 0 ± 0 y a los 6 meses una media de 1 ± 1 ($p=0.012$)

En la escala MRC Medical Research Council Scale, valora estado funcional la evaluación basal obtuvo una media de $.3 \pm .3$ y a los 6 meses de $.4 \pm .2$, $p=0.291$

En el Índice de Barthel, que valora el estado funcional una puntuación alta refleja mejor estado clínico. En la evaluación Basal obtuvo una media de 25 ± 18 y a los 6 meses una media de 5 ± 34 ($p=0.100$)

En la escala MIF (Functional Independence Measure), valora el estado funcional una puntuación alta refleja mejor estado funcional. En la evaluación basal 41.5 y a los 6 meses 58.1 ($p=0.110$)

Grupo control

En la escala CNS en el Basal media de 6.5 ± 3.5 y a los 6 meses 9 ± 2 ($p=0.099$)

En la escala NIHSS en el Basal media de 11 ± 7 y a los 6 meses 6 ± 6 ($p=0.055$)

En la escala EAM en el Basal media de 1 ± 1 y a los 6 meses 1 ± 1 con ($p=1.000$)

En la escala MRC en el Basal media de $.4 \pm .5$ y a los 6 meses $.7 \pm .4$ ($p=0.089$)

En el Índice de Barthel en el Basal media de 38 ± 32 y a los 6 meses 68 ± 25 ($p=0.047$)

En la escala MIF Basal media de 45.63 y a los 6 meses 74.75 ($p=0.017$)

Análisis de grupos independientes

En el análisis de grupos Independientes incluye ambos grupos desde la evaluación inicial hasta la evaluación de los 6 meses (*T de student*) y se obtiene de cada una de las escalas la comparación de las mismas.

| | CONTROL | | | TRASPLANTE | |
|----------------|---------|-----------|--|------------|-----------|
| VARIABLE | MEDIA | T pareada | | MEDIA | T pareada |
| NIHSS | | | | | |
| BASAL | 11 | p 0.055 | | 14 | p 0.169 |
| 6 MESES | 6 | | | 11 | |
| IB | | | | | |
| BASAL | 38 | p 0.047 | | 25 | p 0.100 |
| 6 MESES | 68 | | | 51 | |
| MIF | | | | | |
| BASAL | 45.63 | p 0.017 | | 41.50 | p 0.110 |
| 6 MESES | 74.75 | | | 58.10 | |
| EAM | | | | | |
| BASAL | 1 | p 1.000 | | 0 | p 0.012 |
| 6 MESES | 1 | | | 1 | |
| CNS | | | | | |
| BASAL | 6.5 | p 0.099 | | 6.7 | p 0.597 |
| 6 MESES | 9 | | | 7 | |
| MRC | | | | | |
| BASAL | 40% | p 0.089 | | 30% | p 0.291 |
| 6 MESES | 70% | | | 40% | |

En las escalas **NIHSS**, **CNS**, **EAM**, **IB**, **MRC**, **FIM**, pese a que ambos grupos evolucionaron hacia la mejoría, no existió diferencia entre grupos en las evaluaciones basales y a los 6 meses. Donde se realizó la prueba de T-student.

| NIH | T-student | EAM | T-student | IB | T-student |
|---------|-----------|-----|-----------|-----|-----------|
| | | | | | |
| BASAL | P 0.331 | | p 0.086 | | p 0.422 |
| 6 MESES | P 0.103 | | p 0.283 | | p 0.380 |
| | | | | | |
| CNS | | MRC | | MIF | |
| | | | | | |
| BASAL | p 0.920 | | p 0.510 | | p 0.283 |
| 6 MESES | p 0.150 | | p 0.141 | | p 0.322 |

DISCUSION

El injerto de células tallo en pacientes con Infarto Cerebral plantea un futuro atractivo, pero ciertamente especulativo. La extracción de células madre neurales en pacientes con Infarto Cerebral cultivarlas y expandirlas in Vitro y reimplantadas en el cerebro isquémico. Existen estudios clínicos que apoyan que el trasplante es técnicamente realizable y puede ser realizado con seguridad.

El neurotrasplante en enfermedades neurodegenerativas particularmente en enfermedad de Parkinson, enfermedad de Huntington, lesiones medulares, e infarto cerebral de ganglios basales han mostrado resultados alentadores. Idealmente las células se obtienen del mismo paciente luego procesarlas para convertirlas en células dopaminérgicas o células neuronales etc. son trasplantarlas. Hay resultados alentadores pero es realizar ensayos clínicos prospectivos con grupos control para poder ser validados, sin embargo abrieron esta alternativa terapéutica para otros padecimientos neurológicos.

Nuestro equipo diseñó este trabajo con el objetivo de valorar la utilidad de las células progenitoras hematopoyéticas en fase temprana del EVC isquémico, bajo la premisa de aprovechar el microambiente que existe en la zona de infarto y sobre todo en la zona penumbra isquémica, este es un reporte preliminar, que deberá evaluarse con esa cautela.

En la fecha tenemos una muestra pequeña lo cual puede ser debido a la rigidez con el que se eligen los candidatos.

Los resultados hasta el momento no han mostrado diferencia entre los dos grupos, otro punto que se debe advertir que los pacientes del grupo control ingresaron en mejores condiciones, esto seguramente se modificará al aumentar la muestra, sin embargo, puede ser una explicación de que la evolución haya sido similar en ambos grupos. También pudimos documentar cierta tendencia a una recuperación funcional con mayor celeridad en el grupo tratado sin embargo el corto periodo de seguimiento y una muestra pequeña no permite advertirlo.

Finalmente en relación a la seguridad del procedimiento, sólo tuvimos una complicación en 6 pacientes operados, este dato también lo debemos tomar con reserva hasta tener una muestra suficiente.

El trasplante celular para el infarto cerebral tiene un prometedor futuro, sin embargo existen muchos puntos por dilucidarse; ¿quién es el mejor candidato de acuerdo a la edad, localización anatómica, tamaño del infarto, lado del infarto etc.?, ¿qué tipo células son las ideales?, ¿Cuál es momento adecuado para realizar el trasplante? Preguntas que se resolverán con estudios clínicos aleatorizados con muestra suficiente.

CONCLUSIONES

En este que es reporte preliminar no hubo diferencia entre los grupos estudiados, aunque se evidenció una tendencia hacia una recuperación más rápida en el grupo tratado.

El procedimiento fue seguro.

Es necesario aumentar la muestra para poder tener datos definitivos.

ANEXOS

| | | Paired Differences | | | | t | df | Sig. (2-tailed) | |
|--------|---|--------------------|----------------|-----------------|---|--------|--------|-----------------|-------|
| | | Mean | Std. Deviation | Std. Error Mean | 95% Confidence Interval of the Difference | | | | |
| | | | | | Lower | | | | Upper |
| Pair 1 | Escala NIHSS (basal) - Escala NIHSS (6 meses) | 3,333 | 5,086 | 2,076 | -2,004 | 8,671 | 1,605 | 5 | ,169 |
| Pair 2 | Escala CNS (basal) - Escala CNS (6 meses) | -,5000 | 2,1679 | ,8851 | -2,7751 | 1,7751 | -,565 | 5 | ,597 |
| Pair 3 | Escala EAM (basal) - Escala EAM (6 meses) | -1,000 | ,632 | ,258 | -1,664 | -,336 | -3,873 | 5 | ,012 |
| Pair 4 | Escala MRC (basal) - Escala MRC (6 meses) | -,1708 | ,3543 | ,1447 | -,5427 | ,2010 | -1,181 | 5 | ,291 |
| Pair 5 | Escala IB (basal) - Escala IB (6 meses) | -25,833 | 31,371 | 12,807 | -58,756 | 7,089 | -2,017 | 5 | ,100 |
| Pair 6 | Escala MIF (basal) - Escala MIF (6 meses) | -16,4000 | 20,6947 | 8,4486 | -38,1177 | 5,3177 | -1,941 | 5 | ,110 |

Tabla que muestra análisis de Prueba T Pareada en grupo Trasplante

| | | Paired Differences | | | | | t | df | Sig. (2-tailed) |
|--------|---|--------------------|----------------|-----------------|---|--------|--------|----|-----------------|
| | | Mean | Std. Deviation | Std. Error Mean | 95% Confidence Interval of the Difference | | | | |
| | | | | | Lower | Upper | | | |
| Pair 1 | Escala NIHSS (basal) - Escala NIHSS (6 meses) | 4,200 | 3,493 | 1,562 | -,137 | 8,537 | 2,689 | 4 | ,055 |
| Pair 2 | Escala CNS (basal) - Escala CNS (6 meses) | -2,4000 | 2,5100 | 1,1225 | -5,5166 | ,7166 | -2,138 | 4 | ,099 |
| Pair 3 | Escala EAM (basal) - Escala EAM (6 meses) | ,000 | ,707 | ,316 | -,878 | ,878 | ,000 | 4 | 1,000 |
| Pair 4 | Escala MRC (basal) - Escala MRC (6 meses) | -,2340 | ,2343 | ,1048 | -,5249 | ,0569 | -2,233 | 4 | ,089 |
| Pair 5 | Escala IB (basal) - Escala IB (6 meses) | -26,000 | 20,433 | 9,138 | -51,371 | -,629 | -2,845 | 4 | ,047 |
| Pair 6 | Escala MIF (basal) - Escala MIF (6 meses) | 28,2540 | 16,0183 | 7,1636 | 48,1434 | 8,3646 | -3,944 | 4 | ,017 |

Tabla que muestra análisis de Prueba T Pareada en grupo Control

Tabla que muestra análisis de Prueba T-Student en ambos grupos de estudio al inicio y a los 6 meses

Independent Samples Test

| | | Levene's Test for Equality of Variances | | t-test for Equality of Means | | | | | | |
|------------------------|-----------------------------|---|------|------------------------------|-------|-----------------|-----------------|-----------------------|---|---------|
| | | F | Sig. | t | df | Sig. (2-tailed) | Mean Difference | Std. Error Difference | 95% Confidence Interval of the Difference | |
| | | | | | | | | | Lower | Upper |
| Escala NIHSS (basal) | Equal variances assumed | ,156 | ,701 | 1,021 | 10 | ,331 | 3,667 | 3,590 | -4,333 | 11,666 |
| | Equal variances not assumed | | | 1,021 | 9,276 | ,333 | 3,667 | 3,590 | -4,418 | 11,751 |
| Escala NIHSS (6 meses) | Equal variances assumed | 1,206 | ,301 | 1,815 | 9 | ,103 | 5,400 | 2,975 | -1,329 | 12,129 |
| | Equal variances not assumed | | | 1,775 | 7,636 | ,116 | 5,400 | 3,043 | -1,676 | 12,476 |
| Escala CNS (basal) | Equal variances assumed | 3,788 | ,080 | ,103 | 10 | ,920 | ,1667 | 1,6159 | -3,4338 | 3,7671 |
| | Equal variances not assumed | | | ,103 | 7,463 | ,921 | ,1667 | 1,6159 | -3,8067 | 3,9401 |
| Escala CNS (6 meses) | Equal variances assumed | ,051 | ,827 | -1,561 | 9 | ,153 | -2,0333 | 1,3024 | -4,9795 | ,9128 |
| | Equal variances not assumed | | | -1,574 | 8,874 | ,150 | -2,0333 | 1,2914 | -4,9611 | ,8944 |
| Escala EAM (basal) | Equal variances assumed | 1,712 | ,220 | -1,907 | 10 | ,086 | -,667 | ,350 | -1,446 | ,112 |
| | Equal variances not assumed | | | -1,907 | 7,707 | ,094 | -,667 | ,350 | -1,478 | ,145 |
| Escala EAM (6 meses) | Equal variances assumed | ,418 | ,534 | 1,143 | 9 | ,283 | ,567 | ,496 | -,555 | 1,688 |
| | Equal variances not assumed | | | 1,123 | 7,911 | ,294 | ,567 | ,504 | -,599 | 1,732 |
| Escala MRC (basal) | Equal variances assumed | 2,106 | ,177 | -,684 | 10 | ,510 | -,1525 | ,2231 | -,6495 | ,3445 |
| | Equal variances not assumed | | | -,684 | 8,593 | ,512 | -,1525 | ,2231 | -,6608 | ,3558 |
| Escala MRC (6 meses) | Equal variances assumed | 3,283 | ,103 | -1,615 | 9 | ,141 | -,2992 | ,1853 | -,7183 | ,1199 |
| | Equal variances not assumed | | | -1,548 | 6,589 | ,168 | -,2992 | ,1933 | -,7621 | ,1637 |
| Escala IB (basal) | Equal variances assumed | 3,938 | ,075 | -,837 | 10 | ,422 | -12,500 | 14,930 | -45,767 | 20,767 |
| | Equal variances not assumed | | | -,837 | 7,765 | ,427 | -12,500 | 14,930 | -47,112 | 22,112 |
| Escala IB (6 meses) | Equal variances assumed | 1,522 | ,249 | -,922 | 9 | ,380 | -17,167 | 18,610 | -59,265 | 24,932 |
| | Equal variances not assumed | | | -,950 | 8,913 | ,367 | -17,167 | 18,065 | -58,095 | 23,761 |
| Escala MIF (basal) | Equal variances assumed | ,759 | ,404 | -,283 | 10 | ,783 | -3,5700 | 12,6001 | -31,6447 | 24,5047 |
| | Equal variances not assumed | | | -,283 | 8,950 | ,783 | -3,5700 | 12,6001 | -32,0979 | 24,9579 |
| Escala MIF (6 meses) | Equal variances assumed | ,477 | ,507 | -1,025 | 9 | ,332 | -16,2980 | 15,9022 | -52,2713 | 19,6753 |
| | Equal variances not assumed | | | -1,048 | 8,997 | ,322 | -16,2980 | 15,5582 | -51,4948 | 18,8988 |

Tabla Descriptiva de las variables mostrando media y desviación estándar

| | Grupo | | | | | | | | | |
|-----------------------------|---------|---------------|--------|---------|---------|------------|---------------|--------|---------|---------|
| | Control | | | | | Trasplante | | | | |
| | Mean | Std Deviation | Median | Minimum | Maximum | Mean | Std Deviation | Median | Minimum | Maximum |
| Edad (años) | 66 | 10 | 70 | 49 | 74 | 58 | 12 | 57 | 39 | 77 |
| Días inicio | 7 | 2 | 7 | 4 | 10 | 10 | 3 | 10 | 5 | 15 |
| Tiempo al trasplante (días) | . | . | . | . | . | 15 | 3 | 15 | 10 | 20 |
| Escala CNS (basal) | 6.5 | 3.5 | 5.3 | 2.0 | 11.0 | 6.7 | 1.8 | 6.8 | 3.5 | 9.0 |
| Escala CNS (2 meses) | 9.3 | 3.2 | 9.5 | 5.0 | 14.0 | 7.0 | 2.0 | 7.5 | 3.5 | 9.0 |
| Escala CNS (4 meses) | 10 | 2 | 10 | 8 | 12 | 7 | 3 | 8 | 3 | 9 |
| Escala CNS (6 meses) | 9 | 2 | 9 | 7 | 12 | 7 | 2 | 8 | 4 | 9 |
| Escala NIHSS (basal) | 11 | 7 | 11 | 2 | 21 | 14 | 5 | 14 | 9 | 21 |
| Escala NIHSS (2 meses) | 6 | 4 | 6 | 2 | 12 | 13 | 6 | 14 | 4 | 19 |
| Escala NIHSS (4 meses) | 6 | 5 | 6 | 1 | 13 | 13 | 5 | 14 | 4 | 18 |
| Escala NIHSS (6 meses) | 6 | 6 | 2 | 1 | 13 | 11 | 4 | 11 | 4 | 16 |
| Escala EAM (basal) | 1 | 1 | 1 | 0 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| Escala EAM (2 meses) | 1 | 1 | 1 | 0 | 3 | 1 | 1 | 1 | 0 | 2 |
| Escala EAM (4 meses) | 1 | 1 | 1 | 0 | 3 | 1 | 1 | 1 | 0 | 2 |
| Escala EAM (6 meses) | 1 | 1 | 0 | 0 | 2 | 1 | 1 | 1 | 0 | 2 |
| Escala MRC (basal) | .4 | .5 | .3 | .0 | 1.0 | .3 | .3 | .2 | .0 | .8 |
| Escala MRC (2 meses) | 1 | 0 | 1 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| Escala MRC (4 meses) | .7 | .3 | .8 | .2 | 1.0 | .4 | .2 | .4 | .1 | .7 |
| Escala MRC (6 meses) | .7 | .4 | 1.0 | .2 | 1.0 | .4 | .2 | .4 | .1 | .8 |
| Escala IB (basal) | 38 | 32 | 25 | 5 | 80 | 25 | 18 | 20 | 0 | 50 |
| Escala IB (2 meses) | 53 | 23 | 43 | 30 | 85 | 42 | 32 | 45 | 0 | 70 |
| Escala IB (4 meses) | 65 | 22 | 55 | 45 | 100 | 51 | 29 | 53 | 20 | 85 |
| Escala IB (6 meses) | 68 | 25 | 65 | 35 | 100 | 51 | 34 | 55 | 5 | 90 |

BIBLIOGRAFÍA

- ⁱ [Abrahams JM](#), [Gokhan s](#), [Flamm ES](#), [Mehler MF](#): De Novo neurogenesis and acute stroke : are exogenous stem cells really necessary? *Neurosurgery* 54 (1): 150-155 , 2004.
- ⁱⁱ [Szentirmaj O](#), [Carter BS](#): Genetic and cellular therapies for cerebral infarction . *Neurosurgery* 2004;55(2):283-297.
- ⁱⁱⁱ [Astrup J](#), [Siesjö BK](#), [Symon L](#): Thresholds in cerebral ischemia: The ischemic penumbra. *Stroke* 12: 723-7256,1981.
- ^{iv} [Zhao LR](#), [Duan WM](#), [Reyes M](#), [Keene CD](#), [Verfaillie CM](#), [Low WC](#): Human bone marrow stem cells exhibit neural phenotypes and ameliorate neurological deficits after grafting into the ischemic brain of rats. *Exp Neurol* 174:11-20, 2002.
- ^v [Li Y](#), [Chen J](#), [Chen XG](#), [Wang L](#), [Gautam SC](#), [Xu YX](#), [Katokowsky M](#), [Zhang LJ](#), [Lum](#), [Janakiraman N](#), [Chopp M](#): Human Marrow stromal cell therapy for stroke in rat: [Neurotrophins](#) and functional recovery. *Neurology* 59: 514-523, 2002.
- ^{vi} [Chen J](#), [Li Y](#), [Wang L](#), [Zhang Z](#), [Lu D](#), [Lu M](#), [Chopp M](#): Therapeutic benefit of intravenous administration of bone marrow stromal cells after cerebral ischemia in rats. *Stroke* 32:1005- 1011, 2001.
- ^{vii} [Li Y](#), [Chen J](#), [Wang L](#), [Lum](#), [Chopp M](#): Treatment of stroke in rat with intracarotid administration of marrow stromal cells. *Neurology* 56:1666-1672, 2001.
- ^{viii} [Snyder EY](#), [Deitcher DL](#), [Walsh C](#), [Arnold-Aldea S](#), [Hartwig EA](#), [Cepko CL](#): Multipotent neural cell lines can engraft and participate in development of mouse cerebellum. *Cell* 68:3-51, 1992.
- ^{ix} [Brevig T](#), [Holgersson J](#), [Widner H](#): Xenotransplantation for CNS repair: Immunological barriers and strategies to overcome them: *Trends Neurosci* 23:337-344, 2000.
- ^x [Reubinoff Be](#), [Itsykson P](#), [Turetsky T](#), [Pera MF](#), [Reinhartz E](#), [Itzik A](#), [Ben-Hur T](#): Neural progenitors from human embryonic stem cells. *Nat Biotechnol* 19: 1134-1140, 2001.
- ^{xi} [Benninger Y](#), [Marino S](#), [Hardegger R](#), [Weissman C](#), [Aguzzi A](#), [Brandner S](#): Differentiation and histological analysis of embryonic stem cell-derived neural transplants in mice. *Brain Pathol* 10:330-341, 2000.
- ^{xii} [Qu T](#), [Brannen CL](#), [Kim HM](#), [Sugaya K](#): Human neural stem cells improve cognitive function of aged brain. *Neuroreport* 12:1127-1132, 2001.
- ^{xiii} [Farber SD](#), [Onifer SM](#), [Kaseda Y](#), [Murphy SH](#), [Wells DG](#), [Vigtje BP](#), [Wells J](#), [Low WC](#): Neural transplantation of horseradish peroxidase-labeled hippocampal cell suspensions in an experimental model of cerebral ischemia. *Prog Brain Res* 78:103-107, 1988.
- ^{xiv} [Aoki H](#), [Onodera H](#), [Yae T](#), [Jian Z](#), [Kogure K](#): Neural grafting to ischemic CA1 lesions in the rat hippocampus: An autoradiographic study. *Neuroscience* 56: 345-354,1993.
- ^{xv} [Tonder N](#), [Sorensen T](#), [Johansen FF](#), [Zimmer J](#): Neural grafting to ischemic and excitotoxic hippocampal lesions in the adult rat. *Acta Neurobiol Exp (Wars)* 50: 367-380, 1990.
- ^{xvi} [Sanchez-Ramos JR](#), [Song S](#), [Kamath SG](#), [Zigova T](#), [Willing A](#), [Cardozo-Pelaez F](#), [Stedford T](#), [Chopp M](#), [Sanberg PR](#): Expression of neural markers in human umbilical cord blood. *Exp Neurol* 171:109-115,2001
- ^{xvii} [Chen J](#), [Sanberg PR](#), [Li Y](#), [Wang L](#), [Lu M](#), [Willing AE](#), [Sanchez-Ramos J](#), [Chopp M](#): Intravenous administration of human umbilical cord blood reduces behavioral deficits after stroke in rats. *Stroke* 32:2682- 2688, 2001.
- ^{xviii} [Kleppner SR](#), [Robinson KA](#), [Trojanowski JQ](#), [Lee VM](#): Transplanted human neurons derived from a teratocarcinoma cell line mature , integrate and survive for over 1 year in the nude mouse brain . *J Comp Neurol* 357: 618-632,1995.
- ^{xix} [Asahara T](#) , et al 1997. Isolation of putative progenitor endothelial cells for angiogenesis. *Science*. 275: 964-967.
- ^{xx} [Asahara T](#) , et al. 1999. Bone marrow origin of endothelial progenitor cells responsible for postnatal vasculogenesis in physiological and pathological neovascularization . *Circ. Res.* 85: 221-228.

- xxi [Jaguet, K, Krause, K, Tawakol-khodaj, M, Geidel, S, and Kuck, K.H.2002. Erythropoietin and VEGF exhibit equal angiogenic potencial. *Microvasc. Res.* 64:326-333.](#)
- xxii [Hoehn M, Kustermann E, Bluk J, Wiedermann D, Trapp T, Wecker S, Focking M, Arnold H, Hescheler J, Fleischmann K, Schwindt W, Buhle C: Monitoring of implanted stem cell migration in vivo: A highly resolved in vivo magnetic resonance imaging investigation of experimental stroke in rat. *Proc Natl Acad Sci U S A* 99:16267-16272, 2002.](#)
- xxiii [Guillemain I, Alonso G, Patey G, Privat A, Chaudieu I, Human NT2 neurons express a large variety of neurotransmission phenotypes in vitro. *J Comp Neurol.* 2000;422\(3\):380-395.](#)
- xxiv [Savitz S.I, Malhotra S , Gupta G, Rosenbaum D.M. Cell Transplants Offer Promise for Stroke Recovery. *The Journal of Cardiovascular Nursing.* 2003; 18: 57-61](#)
- xxv [Taguchi A, Matsuyama T, Moriwaki H, et al. Circulating CD34-positive Cells Provide an Index of Cerebrovascular Function. *Circulation.*2004;109:2972-2975](#)
- xxvi [Kelly S, Bliss TM, Shah AK, Sun GH, Masel J, Yenari MA, Weissman IL, Uchida N, Palmer T, Steinberg GK. Transplanted human fetal neural stem cells survive, migrate, and differentiate in ischemic rat cerebral cortex. *Proc Natl Acad Sci USA* 101: 11839-11844. 2004.](#)
- xxvii [Weissman, I. L, Anderson, D.J. & Gage, F. \(2001\) *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* 17 ,387-403.](#)
- xxviii [Eriksson PS, Perfilieva E, Bjork-Eriksson T, Alborn AM, Nordborg C, Peterson DA, Gage FH. *Nat Med* 4:1313-1317, 1998](#)
- xxix [Uchida N, Back DW, He D, Reitsma MJ, Mases M, Phan TV, Tsukamoto AS, Gage FH, Weissman IL. Direct isolation of human central nervous system stem cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 97:14720-14725, 2000.](#)
- xxx [Kondziolka D, Wechsler L, Goldstein S., et al. Transplantation of cultured human neuronal cells for patients with stroke. *Neurology.* 2000 : 55\(4\): 565- 569.](#)
- xxxi [Nelson PT, Kondziolka D, Wechsler L, Goldstein S, Gebel J, DeCesare S, Elder EM, Zhang PJ, Jacobs A, McGrogan M, Lee VM, Trojanowski JQ. Clonal human \(hNT\) neuron grafts for stroke therapy: neuropathology in a patient 27 months after implantation. *Am J Pathol.* 2002;160: 1201–1206.](#)
- xxxii [Kondziolka D, Steinberg GK, Wechsler L, Meltzer C, Elder E, Gebel J, DeCesare S, Jovin T, Zafonte R, Leibowitz J, Flickinger JC, Tong D, Marks M, Jamieson C, Luu D, Bell-Stephens T, Teraoka J. Neurotransplantation for patients with subcortical motor stroke: a phase 2 randomized trial. *J Neurosurg.* 2005;103:38–45.](#)
- xxxiii [Savitz SI, Dinsmore J, Wu J, Henderson GV, Stieg P, Caplan LR. Neurotransplantation of fetal porcine cells in patients with basal ganglia infarcts: a preliminary safety and feasibility study. *Cerebrovasc Dis.* 2005;20:101–107.](#)
- xxxiv [Pakzaban P, Deacon TW, Burns LH, Dinsmore J, Isacson O. A novel mode of immunoprotection of neural xenotransplants: masking of donor major histocompatibility complex class I enhances transplant survival in the central nervous system. *Neuroscience.* 1995;65:983–996.](#)
- xxxv [Tonya Bliss, PhD; Raphael Guzman, MD; Marcel Daadi, PhD; Gary K. Steinberg, MD, PhD; \(*Stroke* 2007;38\[part 2\]:817-826.\)](#)
- xxxvi [Ishibashi S, Sakaguchi M, Kuroiwa T, Yamasaki M, Kanemura Y, Shizuko I, Shimazaki T, Onodera M, Okano H, Mizusawa H. Human neural stem/progenitor cells, expanded in long-term neurosphere culture, promote functional recovery after focal ischemia in mongolian gerbils. *J Neurosci Res.* 2004; 78:215–223.](#)
- xxxvii [Toda H, Takahashi J, Iwakami N, Kimura T, Hoki S, Mozumi-Kitamura K, Ono S, Hashimoto N. Grafting neural stem cells improved the impaired spatial recognition in ischemic rats. *Neurosci Lett.* 2001;316:9 –12.](#)
- xxxviii [Zhang C, Saatman KE, Royo NC, Soltesz KM, Millard M, Schouten JW, Motta M, Hoover RC, McMillan A, Watson DJ, Lee VM, Trojanowski JQ, McIntosh TK. Delayed transplantation of human neurons following brain injury in rats: a long-term graft survival and behavior study. *J Neurotrauma.*2005;22:1456 –1474.](#)
- xxxix [Borlongan CV, Hadman M, Sanberg CD, Sanberg PR. Central nervous system entry of peripherally injected umbilical cord blood cells is not required for neuroprotection in stroke. *Stroke.* 2004;35:2385–2389.](#)
- xl [Kurozumi K, Nakamura K, Tamiya T, Kawano Y, Ishii K, Kobune M, Hirai S, Uchida H, Sasaki K, Ito Y, Kato K, Honmou O, Houkin K, Date I, Hamada H. Mesenchymal stem cells that produce neurotrophic](#)

- factors reduce ischemic damage in the rat middle cerebral artery occlusion model. *Mol Ther*. 2005;11:96–104.
- xii [Llado J](#), [Haenggeli C](#), [Maragakis NJ](#), [Snyder EY](#), [Rothstein JD](#). Neural stem cells protect against glutamate-induced excitotoxicity and promote survival of injured motor neurons through the secretion of neurotrophic factors. *Mol Cell Neurosci*. 2004;27:322–331.
 - xiii [Johnston RE](#), [Dillon-Carter O](#), [Freed WJ](#), [Borlongan CV](#). Trophic factor secreting kidney cell lines: in vitro characterization and functional effects following transplantation in ischemic rats. *Brain Res*. 2001;900:268–276.
 - xiiii [Carmichael ST](#). Plasticity of cortical projections after stroke. *Neuroscientist*. 2003;9:64–75.
 - xlv [Carmichael ST](#). Cellular and molecular mechanisms of neural repair after stroke: making waves. *Ann Neurol*. 2006;59:735–742.
 - xlv [Dancause N](#), [Barbay S](#), [Frost SB](#), [Plautz EJ](#), [Chen D](#), [Zoubina EV](#), [Stowe AM](#), [Nudo RJ](#). Extensive cortical rewiring after brain injury. *J Neurosci*. 2005;25:10167–10179.
 - xlvi [Stroemer RP](#), [Kent TA](#), [Hulsebosch CE](#). Neocortical neural sprouting, synaptogenesis, and behavioral recovery after neocortical infarction in rats. *Stroke*. 1995;26:2135–2144.
 - xlvii [Shen LH](#), [Li Y](#), [Chen J](#), [Zhang J](#), [Vanguri P](#), [Borneman J](#), [Chopp M](#). Intracarotid transplantation of bone marrow stromal cells increases axonmyelin remodeling after stroke. *Neuroscience*. 2006;137:393–399.
 - xlviii [Wei L](#), [Erinjeri JP](#), [Rovainen CM](#), [Woolsey TA](#). Collateral growth and angiogenesis around cortical stroke. *Stroke*. 2001;32:2179–2184.
 - xlix [Zhang ZG](#), [Zhang L](#), [Jiang Q](#), [Chopp M](#). Bone marrow-derived endothelial progenitor cells participate in cerebral neovascularization after focal cerebral ischemia in the adult mouse. *Circ Res*. 2002;90:284–288.
 - l Senior [K](#). Angiogenesis and functional recovery demonstrated after minor stroke. *Lancet*. 2001;358:817.
 - li [Krupinski J](#), [Kaluza J](#), [Kumar P](#), [Wang M](#), [Kumar S](#). Prognostic value of blood vessel density in ischaemic stroke. *Lancet*. 1993;342:742.
 - lii [Chen J](#), [Zhang ZG](#), [Li Y](#), [Wang L](#), [Xu YX](#), [Gautam SC](#), [Lu M](#), [Zhu Z](#), [Chopp M](#). Intravenous administration of human bone marrow stromal cells induces angiogenesis in the ischemic boundary zone after stroke in rats. *Circ Res*. 2003;92:692–699.
 - liii [Jiang Q](#), [Zhang ZG](#), [Ding GL](#), [Zhang L](#), [Ewing JR](#), [Wang L](#), [Zhang R](#), [Li L](#), [Lu M](#), [Meng H](#), [Arbab AS](#), [Hu J](#), [Li QJ](#), [Pourabdollah Nejad DS](#), [Athiraman H](#), [Chopp M](#). Investigation of neural progenitor cell induced angiogenesis after embolic stroke in rat using MRI. *Neuroimage*. 2005;28:698–707.
 - liiv [Taguchi A](#), [Soma T](#), [Tanaka H](#), [Kanda T](#), [Nishimura H](#), [Yoshikawa H](#), [Tsukamoto Y](#), [Iso H](#), [Fujimori Y](#), [Stern DM](#), [Naritomi H](#), [Matsuyama T](#). Administration of CD34₊ cells after stroke enhances neurogenesis via angiogenesis in a mouse model. *J Clin Invest*. 2004;114:330–338.
 - liv [Shyu WC](#), [Lin SZ](#), [Chiang MF](#), [Su CY](#), [Li H](#). Intracerebral peripheral blood stem cell (CD34₊) implantation induces neuroplasticity by enhancing beta1 integrin-mediated angiogenesis in chronic stroke rats. *J Neurosci*. 2006;26:3444–3453.
 - livi [Chen J](#), [Zhang ZG](#), [Li Y](#), [Wang L](#), [Xu YX](#), [Gautam SC](#), [Lu M](#), [Zhu Z](#), [Chopp M](#). Intravenous administration of human bone marrow stromal cells induces angiogenesis in the ischemic boundary zone after stroke in rats. *Circ Res*. 2003;92:692–699.
 - liiii [Jiang Q](#), [Zhang ZG](#), [Ding GL](#), [Zhang L](#), [Ewing JR](#), [Wang L](#), [Zhang R](#), [Li L](#), [Lu M](#), [Meng H](#), [Arbab AS](#), [Hu J](#), [Li QJ](#), [Pourabdollah Nejad DS](#), [Athiraman H](#), [Chopp M](#). Investigation of neural progenitor cell induced angiogenesis after embolic stroke in rat using MRI. *Neuroimage*. 2005;28:698–707.
 - liiii [Taguchi A](#), [Soma T](#), [Tanaka H](#), [Kanda T](#), [Nishimura H](#), [Yoshikawa H](#), [Tsukamoto Y](#), [Iso H](#), [Fujimori Y](#), [Stern DM](#), [Naritomi H](#), [Matsuyama T](#). Administration of CD34₊ cells after stroke enhances neurogenesis via angiogenesis in a mouse model. *J Clin Invest*. 2004;114:330–338.
 - liix [Shyu WC](#), [Lin SZ](#), [Chiang MF](#), [Su CY](#), [Li H](#). Intracerebral peripheral blood stem cell (CD34₊) implantation induces neuroplasticity by enhancing beta1 integrin-mediated angiogenesis in chronic stroke rats. *J Neurosci*. 2006;26:3444–3453.
 - lix [Vendrame M](#), [Gemma C](#), [de Mesquita D](#), [Collier L](#), [Bickford PC](#), [Sanberg CD](#), [Sanberg PR](#), [Pennypacker KR](#), [Willing AE](#). Anti-inflammatory effects of human cord blood cells in a rat model of stroke. *Stem Cells Dev*. 2005;14:595–604.

- lxi [Tse WT](#), [Pendleton JD](#), [Beyer WM](#), [Egalka MC](#), [Guinan EC](#). Suppression of allogeneic T-cell proliferation by human marrow stromal cells: Implications in transplantation. *Transplantation*. 2003;75:389–397.
- lxii [Pluchino S](#), [Zanotti L](#), [Rossi B](#), [Brambilla E](#), [Ottoboni L](#), [Salani G](#), [Martinello M](#), [Cattalini A](#), [Bergami A](#), [Furlan R](#), [Comi G](#), [Constantin G](#), [Martino G](#). Neurosphere-derived multipotent precursors promote neuroprotection by an immunomodulatory mechanism. *Nature*. 2005;436: 266–271.
- lxiii [Arvidsson A](#), [Collin T](#), [Kirik D](#), [Kokaia Z](#), [Lindvall O](#). Neuronal replacement from endogenous precursors in the adult brain after stroke. *Nat Med*. 2002;8:963–970.
- lxiv [Jin K](#), [Minami M](#), [Lan JQ](#), [Mao XO](#), [Battueur S](#), [Simon RP](#), [Greenberg DA](#). Neurogenesis in dentate subgranular zone and rostral subventricular zone after focal cerebral ischemia in the rat. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2001;98:4710–4715.
- lxv [Zhang J](#), [Li Y](#), [Chen J](#), [Yang M](#), [Katakowski M](#), [Lu M](#), [Chopp M](#). of insulin-like growth factor 1 and receptor in ischemic rats treated with human marrow stromal cells. *Brain Res*. 2004;1030:19–27.
- lxvi [Chen J](#), [Li Y](#), [Katakowski M](#), [Chen X](#), [Wang L](#), [Lu D](#), [Lu M](#), [Gautam SC](#), [Chopp M](#). Intravenous bone marrow stromal cell therapy reduces apoptosis and promotes endogenous cell proliferation after stroke in female rat. *J Neurosci Res*. 2003;73:778–786.
- lxvii [Savitz SI](#), [Dinsmore JH](#), [Wechsler LR](#), [Rosenbaum DM](#), [Caplan LR](#). Cell Therapy for Stroke. The Journal of the American Society for Experimental NeuroTherapeutics. 1: 406-414, 2004.
- lxviii [Kondziolka D](#). Fetal Cell Implantation to Treat Parkinson's Disease: Questions for the Future [invited editorials] 49(3): 582-585, 2001.